

**Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Šárka Janáková

Programovaná DNA eliminace u živočichů
Programmed DNA elimination in animals

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Radka Reifová, Ph.D.

Praha, 2020

Poděkování:

Ráda bych poděkovala své školitelce RNDr. Radce Reifové, Ph.D. za vstřícnost, laskavost, cenné rady a čas věnovaný mi během vypracování této bakalářské práce.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 13. 08. 2020

Šárka Janáková

Abstrakt

Programovaná DNA eliminace (PDE) je proces, během kterého dochází k eliminaci části genetické informace z genomu organismu. Vyskytuje se u živočichů i u rostlin. U různých taxonů je eliminována odlišná část genetické informace. U některých organismů dochází k eliminaci kusů chromozomů, u jiných celých chromozomů a u hybridních organismů může být eliminován i celý jeden rodičovský genom. U většiny organismů dochází k PDE v somatických buňkách při rané embryogenezi. Pokud dochází k eliminaci genomu ze zárodečných buněk, eliminace se odehrává během gametogeneze. Funkce i mechanismy PDE se liší mezi jednotlivými organismy, které ji podstupují. Nejčastěji je PDE spojena s rozlišením zárodečných a somatických buněk, determinací pohlaví u živočichů a tvorbou haploidních gamet u hybridů. Časté mechanismy zahrnují epigenetické modifikace DNA určené k eliminaci či tvorbu micronuclei (MN) obsahujících eliminovanou DNA. V této práci jsou tyto funkce a mechanismy shrnuty a doplněny příklady.

Klíčová slova: programovaná DNA eliminace, chromatinová diminuce, chromozomální eliminace, hybridogeneze, micronuclei, epigenetické modifikace, Germ1, GRC

Abstract

Programmed DNA elimination (PDE) is a process in which a part of genetic information is eliminated from the organisms genome. It can be found in both plants and animals. There is a difference in the genetic information eliminated depending on the species. There are some organisms that eliminate only parts of their chromosomes, others that eliminate whole chromosomes and in hybrid organisms one whole parental genome is eliminated. In somatic cells PDE usually takes place during early embryogenesis. If the genome being eliminated comes from the germline cells, PDE takes place during gametogenesis. The function and mechanisms of PDE differs in between the species. It is most often connected with soma and germ cell differentiation, sex determination in animals and haploid gamete production in hybrid species. Mechanisms frequently include epigenetic modifications of DNA destined for elimination or production of micronuclei (MN) with the eliminated DNA inside. This work summarizes these functions and mechanisms and provides examples.

Key words: programmed DNA elimination, chromatin diminution, chromosomal elimination, hybridogenesis, micronuclei, epigenetic modifications, Germ1, GRC

Seznam zkratek:

bp – páry bází

DNA – deoxyribonukleová kyselina

dpf – den po fertilizaci

GRC – germline restricted chromosome (chromozom omezený eliminací na zárodečné buňky)

MN – micronuclei (mimojaderná tělíska obsahující eliminovanou DNA)

PDE – programovaná DNA eliminace

5MeC – 5-methylcytosin

H3K9me₂, H3K9me₃ – di- a trimethylace histonu H3 na lysinu 9

H4K20me₂, H4K20me₃ – di- a trimethylace histonu H4 na lysinu 20

H3S10P – fosforylace histonu H3 na serinu 10

Obsah

1	ÚVOD	7
2	PROGRAMOVANÁ DNA ELIMINACE	8
2.1	Výskyt programované DNA eliminace	8
2.2	Druhy programované DNA eliminace	9
2.2.1	Chromatinová diminuce	9
2.2.2	Eliminace chromozomů	10
2.2.3	Eliminace genomu	10
2.3	Objev programované DNA eliminace	11
2.4	Funkce programované DNA eliminace	11
2.4.1	Rozlišení somatické a zárodečné linie buněk	11
2.4.2	Určení pohlaví organismu	12
2.4.3	Tvorba haploidních gamet	13
3	VÝSKYT U VYBRANÝCH OBRATLOVCŮ	14
3.1	Mihule	14
3.1.1	Průběh PDE u mihulí	14
3.1.2	Obsah eliminované DNA	15
3.1.3	Mechanismus PDE u mihulí	18
3.2	Skokan zelený	19
3.2.1	Průběh PDE u skokana	20
3.2.2	Preferenční eliminace	20
3.2.3	Mechanismus PDE u skokana	21
3.3	Pěvci	22
3.3.1	Průběh PDE u pěvců	23
3.3.2	Germline-restricted chromosome (GRC)	24
3.3.3	Obsah eliminované DNA	26
3.3.4	Mechanismus PDE u pěvců	28
4	ZÁVĚR	29
5	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	31

1 ÚVOD

Genetická informace obsažená v buňkách živých organismů většinou zůstává po celý život stejná a všechny buňky jedince obvykle nesou stejnou genetickou informaci. K diferenciaci buněk dochází pouze v důsledku změn v expresi jednotlivých genů. Integritu a stabilitu genetické informace je důležité udržovat kvůli zajištění dědičnosti a správnému vývoji nových jedinců. I přesto existují výjimky, kdy v rámci jedince dochází v některých buňkách ke ztrátě určitých částí sekvencí DNA. Tyto ztráty nejsou náhodné, ale jde o programovaný mechanismus eliminující či přestavující určité sekvence DNA (Wang a Davis 2014).

Příkladem takové programované DNA eliminace může být například rekombinace mezi segmenty kódujícími imunoglobuliny u dozrávajících B a T lymfocytů, která obratlovcům umožňuje adekvátní imunitní odpověď na ohromné množství antigenů (Jung et al. 2006). Dalším z příkladů programované DNA eliminace je ztráta kusů chromosomů či celých chromosomů z některých buněk. K eliminaci dochází nejčastěji během gametogeneze či rané embryogeneze, a to jak v buňkách somatických, tak v buňkách zárodečné linie, jejichž úkol je přenášet genetickou informaci z generace na generaci (Wang a Davis 2014).

Tento objev starý téměř 150 let podstupují různé živočichové i rostliny z vývojově velmi vzdálených skupin. Jde tedy o fenomén vyvinutý během evoluce několikrát nezávisle na sobě (Wang a Davis 2014). I přesto, že jde vlastně o vrozenou nestabilitu genomu, může být programovaná DNA eliminace jedním z mechanismů, které vlastně bezproblémový vývoj jedinců a předávání genetické informace potomkům umožňují.

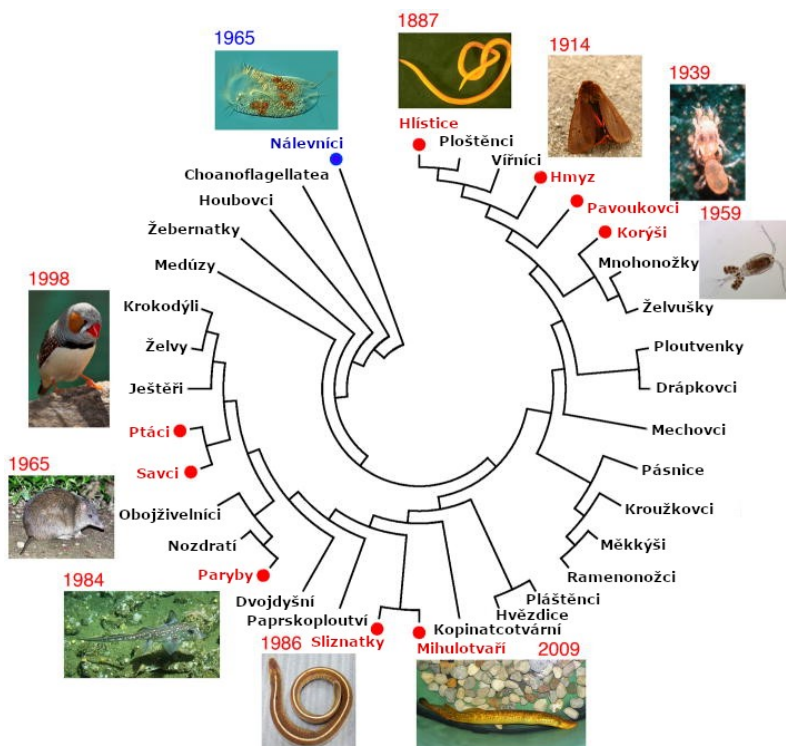
Tato práce poskytuje obecný přehled typů a funkcí programované DNA eliminace u různých živočichů s konkrétními příklady. Dále podrobněji rozebírá průběh, obsah eliminované DNA a známé mechaniky procesu eliminace u vybraných živočichů.

2 PROGRAMOVANÁ DNA ELIMINACE

Programovaná DNA eliminace (PDE) je proces řízeného vyloučení části genetické informace v podobě chromatinu nebo celého chromozomu z jádra buňky somatické či zárodečné, a jeho následné degradace v cytoplazmě buňky. Při vymazání informace ze somatických buněk zůstává stále zachována zárodečných buňkách, které zajišťují přenos do dalších generací. Mezi různými druhy organismů se PDE liší ve funkci, mechanismech i obsahu eliminované genetické informace (Wang a Davis 2014).

2.1 Výskyt programované DNA eliminace

Programovaná DNA eliminace je jev vyskytující se u mnoha skupin organismů, jednobuněčných i mnohobuněčných. V mnohobuněčných organismech jej najdeme jak u bezobratlých, například u některých druhů hlístic, hmyzu či korýšů, tak i obratlovců, například u kruhoústých mihulí a sliznatek, dále čelistnatých vačnatců, či dokonce obojživelníků nebo ptáků, viz *Obrázek 1* (Wang a Davis 2014; Smith et al. 2009; Tunner a Heppich 1981; Goto et al. 1998; Hayman a Martin 1965; Pigozzi a Solari 1998; Grishanin 2014; Wang et al. 2012; Sánchez a Perondini 1999).



Obrázek 1: Fylogenetický strom zakotvený u nálevníků zobrazující živočichy, kteří podstupují programovanou DNA eliminaci společně s rokem objevení u každé skupiny. Vynechání jsou hybridní živočichové. (převzato a upraveno z Wang a Davis 2014)

2.2 Druhy programované DNA eliminace

Vzhledem k tomu, že se programovaná DNA eliminace vyskytuje u tolika různých a navzájem vývojově vzdálených skupin organismů, liší se u různých druhů i její způsob a účel. Při nejjednodušším rozdělení může probíhat několika způsoby. Může docházet buď k takzvané chromatinové diminuci nebo eliminaci chromozomů (Wang a Davis 2014).

2.2.1 Chromatinová diminuce

Prvním typem PDE je chromatinová diminuce. Při chromatinové diminuci dochází většinou mezi metafází a anafází ke zlomu chromozomů. Vzniklé fragmenty chromozomů jsou posléze zkompletovány připojením nových telomer. Fragmenty genetické informace určené k zachování se poté rozcházejí pomocí mitotického aparátu. Eliminované části chromozomů se při anafází buď nepřipojují k mikrotubulům dělicího vřeténka a tím pádem nerozcházejí do dceřinných jader, nebo se při rozchodu výrazně opoždějí za chromozomy, které zůstávají zachovány (Wang a Davis 2014; Streit a Davis 2016).

Tento typ PDE nalezneme u jednobuněčných nálevníků, například u skupin *Tetrahymena* či *Oxytricha* (Bracht et al. 2013). Dále se vyskytuje i u mnohobuněčných bezobratlých kmene *Nematoda*, tedy u hlístic, z nichž je nejlépe prozkoumána u druhu *Ascaris suum*, u skupiny korýšů *Copepoda*, tedy klanonožců, a také u hmyzu, kupříkladu u skupin *Cecidomyiidae* a *Sciaridae* (Maderspacher 2008; Grishanin 2014; De Saint Phalle a Sullivan 1996). Z obratlovců se pak tato forma DNA eliminace vyskytuje zřejmě u kruhoústých mihulí a sliznatek (Goto et al. 1998; Smith et al. 2009).

Chromatinová diminuce probíhá většinou během gametogeneze nebo raného vývoje embrya u prekursorů somatických buněk (Smith et al. 2009; Chmielewska et al. 2018). Během celého procesu pak organismy ztrácí až 90 % své genetické informace (Bracht et al. 2013). Eliminovaná genetická informace obsahuje dle výzkumů většinou repetitivní sekvence DNA, zejména u hlístic se eliminovaná DNA skládá z většiny z repetitivní tandemové sekvence dlouhé 121 párů bazí (bp). V případě hlístic i mihulí pak bylo zjištěno, že kromě repetitivní DNA dochází k eliminaci někdy i několika stovek unikátních genů (Wang et al. 2012; Bryant et al. 2016).

2.2.2 Eliminace chromozomů

Druhým známým způsobem programované ztráty genetické informace je eliminace chromozomů, při níž dochází ke ztrátě jednoho či více celých chromozomů z buněčného genomu. Chromozomy během procesu eliminace zůstávají vcelku, na fragmenty se rozpadají až během jejich konečné degradace (Smith et al. 2009; Wang a Davis 2014).

Tento typ programované DNA eliminace se vyskytuje většinou u obratlovců. Z bezobratlých jej nalezneme u hmyzu z čeledi Sciaridae a hlístic (De Saint Phalle a Sullivan 1996; Streit et al. 2016). Z obratlovců probíhá u kruhoústých, děje se u sliznatek, a zřejmě jde o hlavní způsob ztráty DNA u mihulí, s doplňkovými ztrátami vnitřních sekvencí chromatinovou diminucí (Timoshevskiy et al. 2019). Dále se vyskytuje u ptáků, přesněji u pěvců. Prozatím byl tento jev potvrzen u několika reprezentativních zástupců rodů patřících do podřádu Oscines, tedy zpěvní. U podřádu křikavých, Suboscines, nebyl zatím proveden žádný výzkum týkající se PDE (Torgasheva et al. 2019).

Chromozomální eliminace probíhá většinou během gametogeneze či rané embryogeneze, najdeme ji tedy jak u somatických a zárodečných buněk (Pigozzi a Solari 1998; Smith et al. 2009). Organismy mohou ze svého genomu eliminovat jeden až několik chromozomů, označovaných jako germline-restricted chromosomes (GRC – chromozomy omezené na zárodečné buňky), ztrácí tím pádem jak kódující geny, tak repetitivní DNA (Pigozzi a Solari 1998; Timoshevskiy et al. 2019; Torgasheva et al. 2019).

2.2.3 Eliminace genomu

Eliminace celého genomu je způsob eliminace chromozomů, vyskytující se u hybridních organismů kvůli jejich rozmnožování, konkrétně tvorbě gamet. Genom hybridních organismů se skládá z genomů obou dvou rodičovských druhů. Při tvorbě gamet je tedy potřeba eliminovat jeden z genomů rodičovských, aby při následném oplození eliminovaným rodičovským druhem byla zachována F1 generace (Neaves a Baumann 2011; Dedukh et al. 2017).

Tento typ eliminace chromozomů nalezneme jak u rostlin (Gernand et al. 2005), tak u hybridních druhů živočichů, jako jsou například některé ryby rodu živoroděnka (*Poeciliopsis*) či karas (*Carassius*) (Schultz 1969; Zhang et al. 2015). Dále se vyskytuje například u hybridní žáby skokana zeleného (*Pelophylax esculentus*) (Dedukh et al. 2015).

2.3 Objev programované DNA eliminace

Programovaná DNA eliminace byla jako první objevena ve formě chromatinové diminuce u hlístice *Parascaris univalens* německým biologem Theodorem Boverim v roce 1887. Pomocí mikroskopu studoval segregaci chromozomů při buněčném dělení embrya v rané embryogenezi. Pozoroval fragmentaci chromozomů a následnou segregaci, ke které však u části fragmentů nedošlo (Kloc a Zagrodzinska 2001; Maderspacher 2008).

Snadné pozorování jevu eliminace umožnilo Boverimu několik věcí. Zárůdečné buňky *Parascaris univalens* obsahují pouze dva velké chromozomy, navíc hlístice mají holocentrické chromozomy, u kterých se při buněčném dělení mikrotubuly dělicího vřeténka napojují po celé jeho délce (Albertson a Thomson 1982), díky čemuž se pak mohou zachované fragmenty rozcházet do dceřiných jader. Eliminované fragmenty zůstávají a jsou později degradovány. Po chromatinové diminuci nematod tak dochází, díky fragmentaci, ke zvýšení haploidního počtu chromozomů somatických buněk (Wang et al. 2012; Streit a Davis 2016).

K eliminaci docházelo u budoucích somatických buněk, zatímco buňky zárodečné si zachovávaly dva velké chromozomy. Při porovnání mezi chromozomy v zárodečných a somatických buňkách se tedy zdálo pravděpodobné, že eliminace souvisí s oddělením somatické a zárodečné linie buněk (Wang et al. 2012; Streit a Davis 2016).

2.4 Funkce programované DNA eliminace

2.4.1 Rozlišení somatické a zárodečné linie buněk

Zřejmě nejčastější funkcí programované DNA eliminace u organismů je rozlišení somatické a zárodečné linie buněk. K eliminaci v tomto případě dochází pouze v somatických buňkách, zárodečné buňky si zachovávají veškerou genetickou informaci. V somatických buňkách pak dochází většinou jak k eliminaci kódujících genů, tak k eliminaci nekódujících repetitivních sekvencí. Eliminace tak může jednak umožňovat gene silencing genů exprimovaných pouze v zárodečných buňkách, a jednak snižovat nabývající počet repetitivních sekvencí v somatických buňkách (Wang a Davis 2014; Streit a Davis 2016). Tato funkce eliminace se objevuje u bezobratlých hlístic a klanonožců či obratlovců jako jsou mihule nebo pěvci (Wang et al. 2012; Grishanin 2014; Smith et al. 2009; Biederman et al. 2018).

Některé parazitické hlístice, například *Ascaris suum* či *Parascaris univalens*, využívají tuto funkci a ze somatické linie buněk odstraňují části chromozomů obsahující sekvence specifické pro zárodečné buňky (Wang et al. 2012). U *Ascaris suum* odpovídá až 70 % eliminované genetické informace specifické 121 bp dlouhé repetitivní tandemové sekvenci. Zbylou eliminovanou DNA pak tvoří transpozony a zejména unikátní geny, které jsou exprimovány pouze při gametogenezi, rané embryogenezi, či obojím. V somatické linii tak dochází k jejich permanentnímu gene silencingu (Wang et al. 2012; Streit et al. 2016).

Klanonožci podstupují PDE během raných embryonálních dělení v budoucích somatických buňkách. Konkrétně u druhu *Mesocyclops edax* odpovídá většina eliminované informace repetitivním sekvencím a transpozonům. Je tedy pravděpodobné, že klanonožci eliminaci využívají ke snížení množství repetitivních sekvencí v somatickém genomu (Sun et al. 2014).

U mihulí odstraňuje PDE z budoucích somatických buněk celé chromozomy obsahující jednak repetitivní sekvence a jednak geny specifické pro zárodečné buňky (Smith et al. 2009; Bryant et al. 2016; Timoshevskiy et al. 2019). Eliminované geny jsou pak většinou exprimovány buď přímo v zárodečných buňkách, nebo v rané embryogenezi, mnoho z nich navíc nějakým způsobem souvisí s onkogenezí. Jejich eliminace tak pro mihulí genom funguje nejen jako mechanismus pro rozlišení somatické a zárodečné linie buněk, ale zřejmě také jako způsob permanentního gene silencingu genů, které by při chybné expresi mohly mít pro organismus vážné následky, například v podobě rakovinného bujení (Bryant et al. 2016).

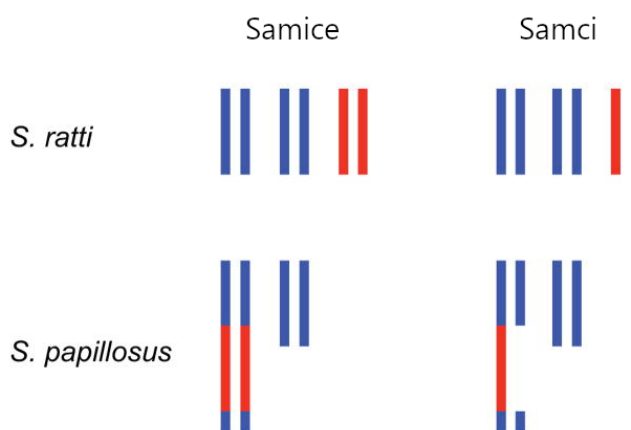
Pěvci využívají PDE k odstranění specifického germline-specific chromozomu (GRC) ze somatických buněk při rané embryogenezi. Z generace na generaci je ale přenášen pouze samičími gametami, a proto je během meiotického dělení spermatogeneze eliminován ze samčích gamet (Pigozzi a Solari 1998). Na eliminovaném chromozomu se nachází geny paralogní ke genům v somatickém genomu pěvců, je tedy pravděpodobný vznik duplikací chromozomu z ancestrálního genomu (Torgasheva et al. 2019).

2.4.2 Určení pohlaví organismu

Další častou funkcí programované DNA eliminace je určení pohlaví organismu. Tuto funkci využívají hlavně bezobratlí živočichové, najdeme ji u hlístic nebo u hmyzu (Wang a Davis 2014). Pohlaví může být určeno například poměrem počtu gonozomů vůči sadám

autozomů, a tak deaktivace nebo právě eliminace gonozomu či jeho části může sloužit jako mechanismus určení pohlaví (Sánchez a Nöthiger 1983).

Hlístice *Strongyloides papillosus* ve formě parazitické samičky při reprodukci partenogenezí produkuje potomky obou pohlaví a k jejich rozlišení využívá právě PDE. V genotypu takové samičky *S. papillosus* nalezneme dva dlouhé a dva střední homologní chromozomy ($2n = 4$). Při reprodukci pak v části oocytů, z kterých se mají stát samečci, dochází k eliminaci vnitřní části jednoho z dlouhých homologních chromozomů. Determinace pohlaví u druhu *S. ratti* je pak jedním z příkladů chromozomální eliminace, viz *Obrázek 2* (Nemetschke et al. 2010; Streit et al. 2016).



Obrázek 2: Vizualizace eliminované části (červeně) jednoho z dlouhých chromozomů u samce *S. papillosus*. U samce *S. ratti* dochází k eliminaci celého chromozomu (převzato a upraveno ze Streit et al. 2016)

Hmyzí rod *Sciara* (smutnice) má v genotypu každé zygoty tři X chromozomy, jeden mateřský a dva otcovské. Během raného embryonálního vývoje dochází k eliminaci jednoho či obou otcovských X chromozomů. Z jedinců s jedním eliminovaným chromozomem se stávají XX samice, jedinci eliminující oba otcovské chromozomy se stávají XO samci (Sánchez a Perondini 1999).

2.4.3 Tvorba haploidních gamet

Tato funkce DNA eliminace se uplatňuje u hybridních organismů, rostlin i živočichů, které svou populaci obnovují rozmnožováním s jedním z rodičovských druhů. Eliminace s touto funkcí tedy probíhá v zárodečných buňkách. Hybridi během gametogeneze eliminují jeden z rodičovských genomů a následně tvoří haploidní gamety se zachovaným genomem.

Svou populaci pak obnovují rozmnožováním s rodičovským druhem, jehož genom byl během gametogeneze eliminován (Schultz 1969; Neaves a Baumann 2011).

Hybridní žába skokan zelený, *Pelophylax esculentus*, je jedním z druhů využívajících PDE ke tvorbě haploidních gamet. Jeho diploidní i triploidní forma během gametogeneze eliminují jeden rodičovský genom, u diploidní formy pak navíc dochází k duplikaci zbývajících genomu. Výsledkem meiózy jsou pak haploidní gamety obsahující pouze jeden rodičovský genom. Ne vždy ale musí k eliminaci docházet, následně pak mohou vznikat diploidní gamety a jejich oplozením pak triploidní hybridy (Dedukh et al. 2015; 2017).

3 VÝSKYT U VYBRANÝCH OBRATLOVCŮ

3.1 Mihule

Mihule je taxonomická třída řadící se vedle sliznatek mezi kruhoústé obratlovce. Mezi mihulemi nalezneme sladkovodní i slánovodní druhy, ovšem jejich vývoj vždy začíná ve sladké vodě, kde najdeme jejich filtrující larvy, minohy. Jedná se o podlouhlé živočichy s bezšupinatou sliznatou kůží a chrupavčitou kostrou. Většina druhů je parazitická, po přisátí se na hostitele pomocí kruhovitěho ústního otvoru se živí jeho krví či svalovinou. Některé druhy se pak živí pouze během larválního stádia a jako dospělci potravu nepřijímají (Gaisler a Zima 2007).

Jev programované DNA eliminace byl u mihulí objeven v roce 2009, a to u druhu mihule mořské (*Petromyzon marinus*) (Smith et al. 2009). Jde o parazitickou mihuli, která ovšem většinu svého života tráví jako filtrující larva. Jedná o mořský anadromní druh, který po dosažení dospělosti migruje do řek, kde jedinci po dokončení aktu rozmnožování umírají (Gaisler a Zima 2007). V následných studiích pak byla eliminace prokázána i u mihule *Entosphenus tridentatus* (Timoshevskiy et al. 2017).

3.1.1 Průběh PDE u mihulí

Programované DNA eliminace se u mihulí projevuje zejména eliminací celých chromozomů, ale nelze vyloučit, že dochází i ke ztrátě menších samostatných fragmentů (Timoshevskiy et al. 2019). Probíhá v raném stádiu embryogeneze v budoucích somatických buňkách. Dochází v nich totiž k eliminaci chromozomů a chromatinu specifických pro buňky zárodečné linie. Proces eliminace v embryu začíná zřejmě při sedmém embryonálním dělení, po něm už jsou totiž pozorovatelné první struktury spojené s eliminací. Celá

eliminace je dokončena nejdříve třetí den po fertilizaci (dpf) embrya, kdy tyto struktury postupně mizí (Timoshevskiy et al. 2016; Bryant et al. 2016).

Genom mihulí se sestává z velkého počtu relativně malých chromozomů. Díky tomu, že u mihulí dochází k eliminaci celých chromozomů, se liší karyotyp somatické a zárodečné buňky. Haploidní počet chromozomů byl v somatických buňkách stanoven na $n = 84$ oproti zárodečným buňkám s $n = 96$. Ze somatické linie buněk je tedy eliminováno celkem 12 chromozomů (Timoshevskiy et al. 2019).

K samotné eliminaci dochází během procesu buněčného dělení, zahájena je zřejmě při přechodu mezi metafází a anafází. Eliminovanou DNA můžeme nejdříve vizuálně zachytit v anafázi jako tzv. lagging chromatin/chromozom, tedy chromatin, který se zpožďuje za zachovanými chromozomy při jejich segregaci do dceřiných buněk, jindy viditelný například v některých rakovinných buňkách. Vizually mohou tvořit i chromozomální mosty spojující obě skupiny rozcházejících se chromozomů (Timoshevskiy et al. 2016). Podle analýzy meiotických preparátů se chromozomy specifické pro zárodečnou linii držely většinou blízko sebe, což bylo zřejmě způsobeno častými vzájemnými kontakty mezi jejich telomerami. Spojením telomer se vzájemnými homologiemi tak společně tvořily tzv. meiotické řetězce, které se ovšem v jednotlivých buňkách lišily obsahem i počtem přítomných chromozomů (Timoshevskiy et al. 2019). Zpoždění eliminovaných chromozomů při segregaci je tak možná způsobeno právě těmito kontakty.

Jelikož je proces zahájen při sedmém buněčném dělení, eliminované chromozomy se během prvních šesti dělení normálně segregují do dceřiných buněk (Timoshevskiy et al. 2016). Až do své eliminace si pak zachovávají možnost tvořit kinetochory a navazovat kontakty s mikrotubuly mitotického tělíska. Roztažené chromozomální mosty jsou zřejmě způsobené tím, že eliminované chromozomy mají během anafáze své distální konce stále blízko ekvatoriální roviny, navíc navzájem spojené telomerickými kontakty, ale proximálními konci zůstávají blízko směrem k somaticky zachovaným chromozomům (Timoshevskiy et al. 2019).

3.1.2 Obsah eliminované DNA

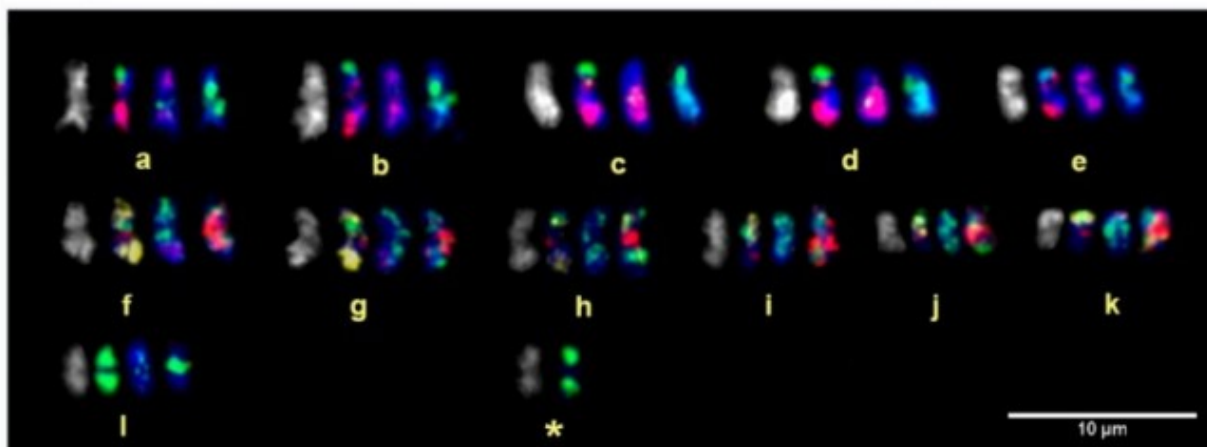
Při eliminaci dochází v genomu mihulí ke ztrátě přibližně 20 % DNA. V případě mihule mořské to pak znamená ztrátu asi 0,5 gigabázi (Smith et al. 2009). Vzhledem k tomu, že dochází k eliminaci celých chromozomů, jsou součástí eliminované DNA jak repetitivní

sekvence, tak unikátní DNA. V průběhu programované DNA eliminace u mihulí tak dochází i k eliminaci zhruba 356 protein kódujících genů (Smith 2018).

Smith et al. při objevu PDE v mihuli mořské definoval specifickou repetitivní sekvenci s vysokým výskytem v eliminovaných chromozomech, nazvanou Germ1. V zárodečných buňkách se Germ1 vyskytuje ve velkém množství v tandemových repeticích na několika chromozomech, v somatických buňkách ji ale nalezneme jen na jednom páru chromozomů. K eliminaci Germ1 dochází právě 2–3 dny po oplození. V nukleotidové sekvenci toho fragmentu jsou mimo jiné obsaženy sekvence odpovídající 18S rDNA *Petromyzon marinus* a terminální části sekvence 28S rDNA (Smith et al. 2009).

Eliminovaná DNA ale obsahuje více rozdílných repetitivních elementů unikátních pro zárodečnou linii buněk. Identifikované repetice byly rozděleny do dvaceti clusterů, z nichž bylo určeno šest reprezentativních nových repetitivních sekvencí specifických pro eliminované chromozomy, které byly označeny Germ2–7. Jedná o tandemové sekvence bez známých homologů, s krátkou ústřední sekvencí v délce od 13 do 57 párů bazí (Timoshevskiy et al. 2019).

Timoshevskiy et al. (2019) k určení chromozomů specifických pro germinální linii buněk využil fluorescentní in situ hybridizaci (FISH) s laser-capture painting probou, označenou LC proba. Tento postup umožnil vizuálně určit 12 eliminovaných chromozomů a 84 somaticky zachovaných. Při společné lokalizaci repetitivních elementů Germ1–7 a LC proby na stejný set meiotických preparátů nové repetitivní sekvence Germ2–7 hybridizovaly výhradně s chromozomy specifickými pro zárodečné buňky, viz *Obrázek 3*. Germ1, 2 a 6 se dokonce nacházely na všech dvanácti eliminovaných chromozomech, ale Germ1 na rozdíl od Germ2 a Germ6 hybridizuje i se somatickou DNA (Smith et al. 2009; Timoshevskiy et al. 2019). Tyto konkrétní sekvence se liší i distribucí na jednotlivých chromozomech, Germ1 najdeme spíše pericentromericky, Germ2 se nachází blíže k telomerám a Germ6 je rozprostřen podél chromozomálních ramének. Díky jejich specifitě pro eliminovanou DNA a rozmístění těchto sekvencí by jejich funkce mohla souviset s mechanismem, který chromozomy k eliminaci označuje (Timoshevskiy et al. 2019).



Obrázek 3: Vizualizace dvanácti GRC mihule mořské ve čtyřech různých zobrazeních – 1) černobílé DAPI zbarvení; 2) hybridizace s Germ1 (zelená), Germ2 (červená) a Germ3 (žlutá); 3) hybridizace s Germ4 (zelená) a Germ5 (červená); 4) hybridizace s Germ6 (zelená) a Germ7 (červená); * označuje somatický bivalent hybridizující s Germ1 (převzato z Timoshevskiy et al. 2019)

Mihule mořská při eliminaci neztrácí pouze repetitivní sekvence, ale i kódující DNA. Celkově zřejmě ztrácí alespoň 356 unikátních genů, nicméně funkce jsou známy jen u několika z nich (Smith et al. 2018). Možné deletované sekvence byly zjištěny srovnáním genomu somatických a zárodečných buněk mihule. Z výsledných 576 transkribovaných sekvencí, bylo PCR validací určeno 44 genů eliminovaných ze somatické DNA. I tyto geny jsou eliminovány během přibližně pěti dpf, u některých se ale ukazuje zvýšená exprese až tři dpf, a k eliminaci dochází až poté (Bryant et al. 2016).

Dle studie Bryant et al. (2016) vykazovaly některé z těchto genů významný rozdíl v expresi mezi různými tkáněmi ($P < 0,05$), konkrétně v porovnání exprese mezi varlaty a somatickými tkáněmi. Nadpoloviční většina genů vykazovala rozdílnou expresi mezi určitými časovými body po fertilizaci, u většiny například došlo ke zvýšení exprese druhý dpf (Bryant et al. 2016).

Zjištěné geny se dají, dle známých funkcí svých lidských homologů, rozdělit na několik skupin:

1) geny související s onkogenezí/tumorigenezí

Tato skupina zahrnuje několik genů, které jsou součástí Wnt a cadherinových signálních drah, dále například gen pro hydroxylysin kinázu (HYKK) nebo i cancer/testis antigen 68. Zřejmě jde o eliminaci z důvodu prevence chybné exprese, např. u *Drosophily* může chybná exprese zárodečných genů souviset s tumorigenezí (Janic et al. 2010; Smith et al. 2012; Bryant et al. 2016).

2) geny související s apoptózou a vývojem

Jde např. o BIRC1 či BIRC3 geny. U těchto genů inhibitorů apoptotických proteinů (IAP) může mít chybná exprese tumorigenní následky (Saleem et al. 2013; Bryant et al. 2016).

3) geny bez souvislosti s onkogenezí

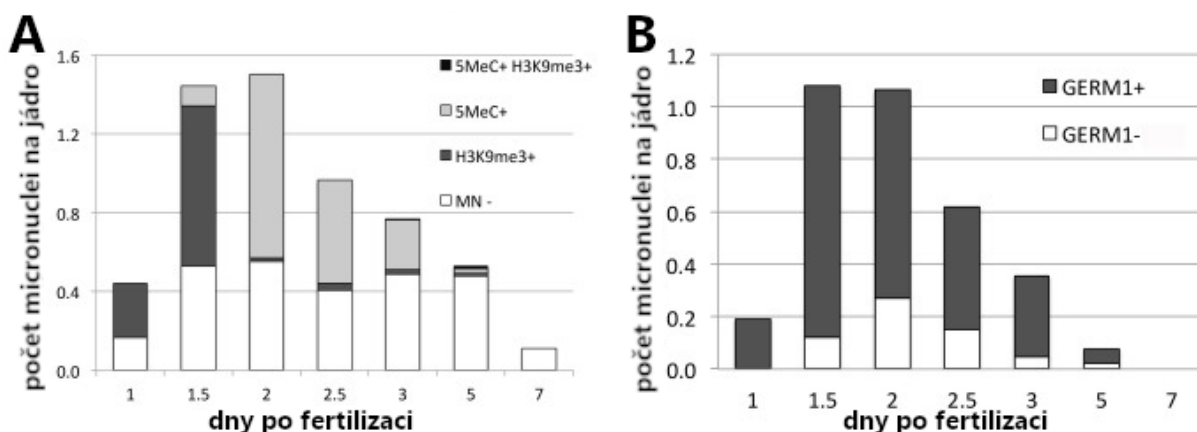
Součástí této skupiny jsou například FAT atypical cadherin 3 (FAT3) nebo gen MYHB fungující ve vývoji srdečního a kosterního svalstva. Tyto geny samy o sobě s onkogenezí nesouvisí, přesto jsou ale eliminovány ze somatického genomu mihulí. Některé z nich jsou u jiných druhů dokonce součástí důležitých vývojových drah, například geny související s neurogenezí, jako právě FAT3. Během samostatného vývoje mihulí tyto geny mohly vytvořit či přijmout nové funkce specifické pro zárodečnou linii (Mitsui et al. 2002; Bryant et al. 2016).

3.1.3 Mechanismus PDE u mihulí

V procesu zahájení programované DNA eliminace by podle Smithe mohly hrát role rekombinace na specifických místech chromozomu, jak soudí z přítomnosti krátkých 5' /3' palindromatických sekvencí u předpokládaných bodů zlomu (Smith et al. 2012). Mechanismus, dle kterého je označována DNA určená k eliminaci, není zatím znám. Existence a rozložení repetitivních sekvencí exkluzivních pro eliminované chromozomy ale naznačují, že by mohly být jednou z jeho částí (Timoshevskiy et al. 2019). Během anafáze pak eliminované chromozomy vytváří lagging chromatin a zpožďují se oproti zachovaným somatickým chromozomům. Lagging chromatin je po dokončení anafáze balen do mimojaderných struktur zvaných micronuclei (MN), ve kterých je DNA nakonec degradována. Micronuclei se u mihulí objevují již první den po fertilizaci embrya, největšího množství dosahují 2 dpf, a 7 dpf se již téměř nevyskytují (Timoshevskiy et al. 2016).

S mechanismem eliminace jsou u mnoha druhů spojeny epigenetické modifikace, zejména DNA methylace a methylace histonu H3 na lysinu 9 (Taverna et al. 2002; Del Priore a Pigozzi 2014). U mihulí se nejčasnější embryonální methylace 5MeC (5-methylcytosin) a trimethylace histonu H3 na lysinu 9 (H3K9me3 – represivní modifikace histonu (Wiles a Selker 2017)) ukazují ve zvýšené míře ve většině MN, tedy na DNA určené k eliminaci (Timoshevskiy et al. 2016). Množství MN s těmito modifikacemi se liší v průběhu času, navíc se jednotlivé modifikace většinou nevyskytují ve stejných MN zároveň. H3K9me3 se v MN vyskytuje zejména během prvního dpf, druhý den je v MN už téměř nepřítomna,

přesouvá se spíše na primární nukleus. Oproti tomu se 5MeC první dpf v MN prakticky nevyskytuje, objevuje se až druhý den, kdy zároveň dosahují svého maxima, viz *Obrázek 4*. MN s různými modifikacemi se liší i svou pozicí v buňce. MN s 5MeC lze nalézt ve větší vzdálenosti od jádra než MN s obsahem H3K9me3, což společně s časovým rozdílem jejich přítomnosti v jádrech naznačuje, že jsou tyto modifikace užívány ke značení různě starých MN. Jejich další účel pak může být transkripční umlčení genů – gene silencing (Timoshevskiy et al. 2016).



Obrázek 4: A) Rozložení množství micronuclei s jednotlivými epigenetickými modifikacemi podle dní po fertilizaci (dpf). **B)** Rozložení Germ1 pozitivních a Germ1 negativních micronuclei podle dpf (převzato a upraveno dle Timoshevskiy et al. 2016)

3.2 Skokan zelený

Skokan zelený (*Pelophylax esculentus*) je hybridní druh vznikající zkřížením druhů skokan skřehotavý (*Pelophylax ridibundus*) a skokan krátkonohý (*Pelophylax lessonae*). Spolu se svými rodičovskými druhy patří do čeledi skokanovití (*Ranidae*). Tato čeleď zahrnuje asi 650 druhů k nalezení téměř všude na světě, i v Austrálii. V České republice se vyskytuje šest druhů, včetně skokana zeleného a jeho rodičovských druhů. Jde o žáby s většinou nepřímým vývojem a vodními pulci, přičemž dospělci se také zdržují blízko vody. Skokan skřehotavý preferuje stojaté až mírně tekoucí vody, skokan krátkonohý se drží u vodních nádrží či mokřad. Skokan zelený může koexistovat s oběma rodičovskými druhy (Gaisler a Zima 2007).

Pro skokana skřehotavého (genom RR) i pro skokana krátkonohého (genom LL) platí počet chromozomů $2n = 26$. Jejich genomy jsou tvořeny metacentrickými a submetacentrickými chromozomy (Doležálková et al. 2016). Co se týče skokana zeleného, existují diploidní (LR) i triploidní (LLR nebo RRL) verze $3n = 39$. Můžeme je najít

v populacích společně s jedním nebo druhým rodičovským druhem (tedy L-E a R-E populace) nebo v samostatných hybridní populacích udržovaných díky existenci triploidních hybridů (Christiansen 2009). Skokan zelený jakožto hybridní organismus vytváří haploidní gamety s pouze jedním rodičovským genomem eliminací druhého genomu. Tunner a Heppich v roce 1981 pozorovali ztrátu genomu skokana krátkonožého a zachování genomu skokana skřehotavého během gametogeneze (Tunner a Heppich 1981).

3.2.1 Průběh PDE u skokana

Programovaná DNA eliminace u skokana zeleného slouží ke tvorbě haploidních gamet, proto probíhá v zárodečných buňkách gonád, somatické buňky gonád i zbytku těla si zachovávají oba dva genomy. Tyto zárodečné buňky – gonocyty – vznikají z primordiálních zárodečných buněk, a tvoří je primární oogonie u samic a prespermatogonie u samců (Haczkiwicz et al. 2017; Ogielska a Wagner 1993). K eliminaci tím pádem dochází během procesu gametogeneze u obou pohlaví. V naprosté většině probíhá premeioticky, ale v některých případech lze nalézt oba dva genomy v buňce i po meióze. Aby nedošlo k narušení procesu meiózy, dochází u diploidních hybridů po eliminaci jednoho genomu k duplikaci zachovaného genomu, a to zřejmě endoreplikací či endomitózou. U triploidních hybridů není třeba duplikaci podstupovat, po eliminaci mají stále ještě diploidní genom (Christiansen 2009; Dedukh et al. 2020).

Při eliminaci jednoho z rodičovských genomů u hybrida LR dochází ke snížení počtu chromozomů z diploidních 26 na haploidních 13. Mechanismus označení rodičovského genomu jako určeného k eliminaci zatím není prozkoumán. Přesto ale existují rozdíly mezi chromozomy L a R genomu, které by mohly s jejich rozlišením při PDE souviset. R chromozomy bývají delší a více heterochromatinizované než L chromozomy, s vyšším obsahem DNA a rozdílným počtem centromerických repetit (Vinogradov et al. 1990; Dedukh et al. 2013).

3.2.2 Preferenční eliminace

U skokana dochází k preferenční eliminaci jednoho z rodičovských genomů v závislosti na několika faktorech. Záleží hlavně na populaci, ve které hybrid žije, na jeho ploidii a na složení jeho genomu. Dle těchto informací můžeme předpokládat jaké budou gamety tvořené různými jedinci. Diploidní hybridi LR většinou preferenčně eliminují L genom, a po duplikaci a meióze pak následně tvoří haploidní R gamety. Triploidní hybridi

eliminují ten genom, kterého mají v genomu jen jednu kopii. Jedinci s LLR genom pak tvoří haploidní L gamety, a jedinci s RRL genomem haploidní R gamety (Christiansen 2009; Dedukh et al. 2020). Všechny buňky jednoho jedince ale nemusí eliminovat ten samý genom, existují tedy jedinci, kteří mohou produkovat zároveň gamety s odlišným rodičovským genomem. V některých případech u diploidních samic nemusí docházet k eliminaci vůbec, dochází tím pádem ke vzniku diploidních vajíček LR, ze kterých po oplození vznikají triploidní formy skokana zeleného (Dedukh et al. 2017). Triploidní hybridi se tedy nemohou sami v populaci udržovat, ale musí spoléhat na diploidní gamety diploidních hybridních samic. Jelikož jak LR, tak RRL hybridi preferenčně produkují haploidní R gamety, zodpovědnost za většinu LLR i LR hybridů nesou LLR samečci tvořící preferenčně L sperma (Dedukh et al. 2020).

U diploidních hybridů nedochází mezi zachovanými duplikovanými kopiemi genomu k rekombinaci, jde tedy o asexuální rozmnožování a tvorbu klonálních gamet. Naproti tomu kopie genů u triploidních hybridů pochází od různých jedinců, dochází mezi nimi tedy k rekombinaci a sexuálnímu rozmnožování (Neaves a Baumann 2011).

3.2.3 Mechanismus PDE u skokana

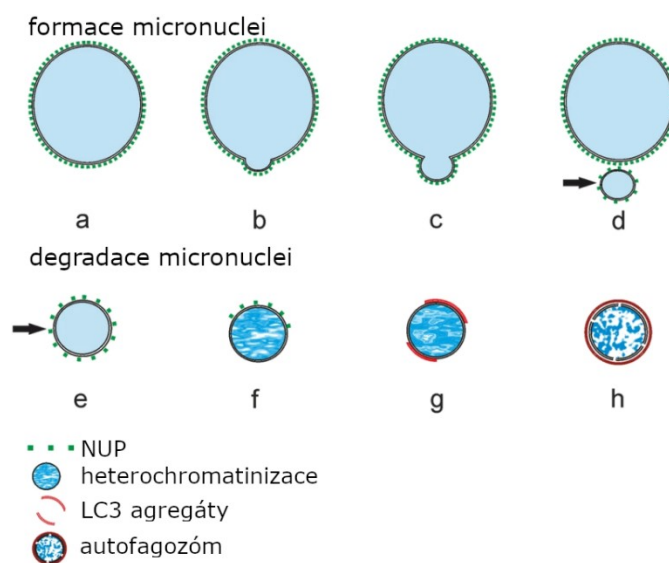
Způsob eliminace DNA je mezi hybridy u skokana unikátní, využívá totiž, stejně jako například mihule, formace micronuclei obsahujících eliminovanou DNA. Tyto extranukleární struktury se nacházejí v gonocytech obou pohlaví skokana zeleného, naproti tomu u rodičovských druhů, které eliminaci nepodstupují, se MN ve stejných vývojových fázích neobjevují (Timoshevskiy et al. 2016; Chmielewska et al. 2018).

Micronuclei se vyskytují až ve 30 % gonocytů, v jedné buňce lze nalézt 1–5 najednou (Dedukh et al. 2017). Dedukh et al. pomocí detekce kinetochor detekoval v naprosté většině MN pouze jednu centromeru, a tím pádem pouze jeden chromozom určený k degradaci. Pouze naprosté minimum MN, asi 4 %, neobsahovalo žádný chromozom nebo naopak víc než jeden. Detekovatelné centromery ukazují, že jde o eliminaci celých chromozomů najednou, a ne pouze jejich fragmentů. Jelikož jeden MN obsahuje pouze jeden eliminovaný chromozom, musí docházet k postupné eliminaci genomu. Gonocyty tak zřejmě během eliminace zůstávají dočasně aneuploidní (Dedukh et al. 2020).

Vznik MN u skokana zeleného se dá rozdělit na dva hlavní způsoby. Primárně se objevují pučením a odškrcením z hlavního jádra gonocytu v interfázi, viz *Obrázek 5*. Sekundárně se pak mohou objevovat lagging chromozomy během anafáze buněčného dělení,

které nese segregují do dceřiných jader a jsou obaleny nově vytvořenou membránou (Dedukh et al. 2017; Chmielewska et al. 2018). Sekundární způsob probíhá také například u mihulí (Timoshevskiy et al. 2016), ale u skokana je častější způsob jejich tvorby pučením.

Po vytvoření MN dochází postupně k heterochromatinizaci a transkripčnímu silencingu jejich obsahu, dle pozorovaného zvýšení obsahu markeru heterochromatinu H3K9me3 a snížení obsahu markeru euchromatinu H4Ac oproti hlavnímu buněčnému jádru (Chmielewska et al. 2018). Nakonec dochází k samotné eliminaci DNA a zničení MN. Nejpravděpodobnějším způsobem se zdá autofagie. Dedukh et al. (2020) pozoroval v gonocytech MN v různých fázích rozkladu, navíc okolo jiných objevil možné znaky formace autofagozomů, jako byly lysosomální váčky, otvory v obalech MN nebo části membrán nacházející se volně okolo. Marker LC3 označující formaci autofagozomů se ale vyskytoval jen na malém procentu MN, zřejmě jde tedy o rychle probíhající jev (Chmielewska et al. 2018; Dedukh et al. 2020).



Obrázek 5: Diagram předpokládaného procesu tvorby a zániku micronuclei u skokana zeleného pomocí pučení a autofagie. Části a-d zobrazují vznik micronuclei pučením, části e-f zobrazují postupnou heterochromatinizaci obsahu, vytvoření autofagozomu okolo micronuclei a postupnou degradaci. (převzato a upraveno z Chmielewska et al. 2018)

3.3 Pěvci

Pěvci (*Passeriformes*) jsou nejhojnějším ptačím řádem zahrnujícím přes 5000 druhů a tím pádem alespoň polovinu známých ptáků. Nejčastěji se jedná o menší druhy ptactva rozšířené po celém světě snad kromě Antarktidy. Typicky mají anizodaktylní nohy

uzpůsobené životu na stromech, kde staví hnízda pro svá nidikolní mláďata. Najdeme je ale i na zemi, ve skalách či na městských budovách. Známí jsou také svým zpěvem, ke kterému využívají specializované hlasové ústrojí syrinx (Kingsley et al. 2018). Živit se mohou hmyzem, semeny, ovocem a některé druhy i rostlinným pylem a nektarem. Pěvce lze dále dělit na dva podřády, zpěvné (*Oscines*) a křikavé (*Suboscines*) (Gaisler a Zima 2007).

Programovaná DNA eliminace byla u pěvců objevena v roce 1998, kdy Pigozzi a Solari pozorovali v zárodečných buňkách zebřičky pestré (*Taeniopygia guttata*) nadbytečný chromozom zvaný germline-restricted chromosome (GRC). Zároveň si ověřili jeho nepřítomnost v kostní dřeni, tedy somatických buňkách, a rozdílné chování v meióze dle pohlaví. U samců totiž dochází k eliminaci GRC a u samic k jeho přenosu do dalších generací (Pigozzi a Solari 1998).

Zebřička pestrá je pěvec patřící do čeledi astrildovití (*Estrildidae*). Jedná se o pestře zbarveného ptáka, samečka lze rozeznat díky oranžovému opeření tváří. Tento primárně semenožravý pták je rozšířen hlavně v Austrálii a také v Indonésii (Payne 2020). GRC a jeho eliminace byla později objevena u celkem 16 vybraných zástupců různých skupin pěvců, zebřička pestrá je ale stále druh s nejlépe prozkoumanými mechanismy a obsahem eliminace (Torgasheva et al. 2019).

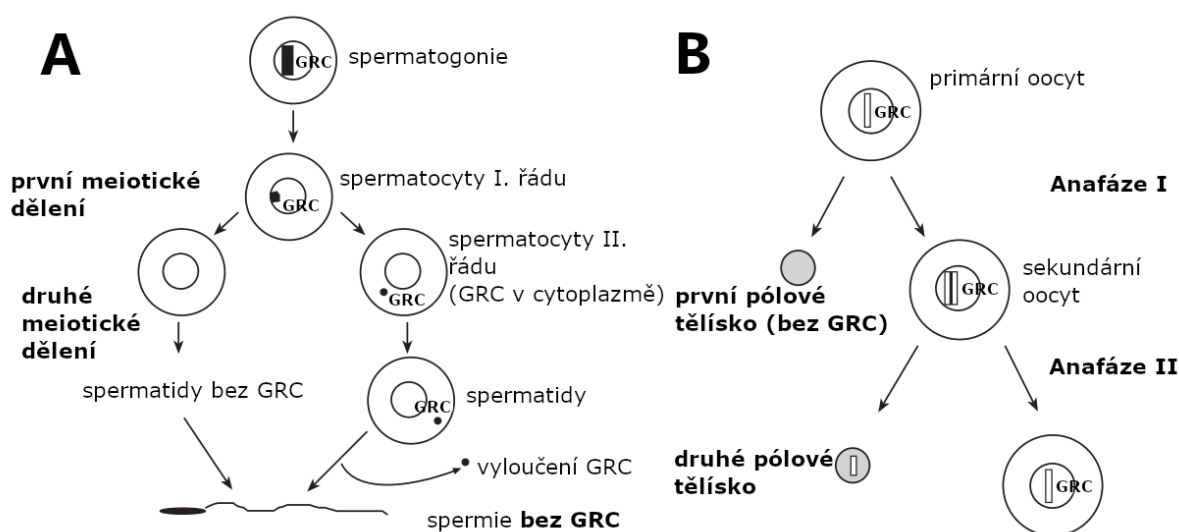
3.3.1 Průběh PDE u pěvců

V somatickém karyotypu zebřičky pestré se nachází celkem 80 chromozomů, tedy 39 párů autozomů, z toho 7 párů makrochromozomů a 32 párů mikrochromozomů, a ZZ/ZW pár. V zárodečných buňkách se pak navíc nachází nadbytečný GRC (Pigozzi a Solari 1998; Itoh a Arnold 2005; Itoh et al. 2009). Tento chromozom je eliminován z budoucích somatických buněk během rané embryogeneze u obou pohlaví, a zároveň je eliminován během spermatogeneze u samců. K této samčí eliminaci dochází zřejmě během prvního meiotického dělení, což vede ke vzniku gamet bez GRC. K jeho přenosu na potomstvo tedy dochází skrze samičí linii (Pigozzi a Solari 1998).

GRC se ve spermatocytech I. řádu nachází ve formě univalentu, zůstává tak viditelný během metafáze I (Pigozzi a Solari 1998). V jádru jej většinou lze nalézt na periferii dál od zbylých chromozomů. GRC zřejmě podstupuje procesy heterochromatinizace, kondenzace a transkripčního silencingu ještě před nebo při vstupu do meiózy, dochází k nim ještě před chromozomálním párováním. Tento proces pravděpodobně slouží k překonání asynaptických checkpointů. GRC je eliminován během spermatogeneze, konkrétně během

prvního meiotického dělení podstupuje redukční dělení a následně eliminaci z jádra. Asi $\frac{3}{4}$ jader ztrácí GRC rovnou, u čtvrtiny buněk zůstává GRC napojen na jádro nebo uvnitř a k eliminaci dochází později (Pigozzi a Solari 2005; Schoenmakers et al. 2010). Po vyloučení z jádra jej v metafázi II lze vidět v cytoplazmě asi 50 % spermatocytů II. řádu a raných spermatid jako kulaté těleso hustě sbaleného chromatinu, viz *Obrázek 6* (Pigozzi a Solari 2005).

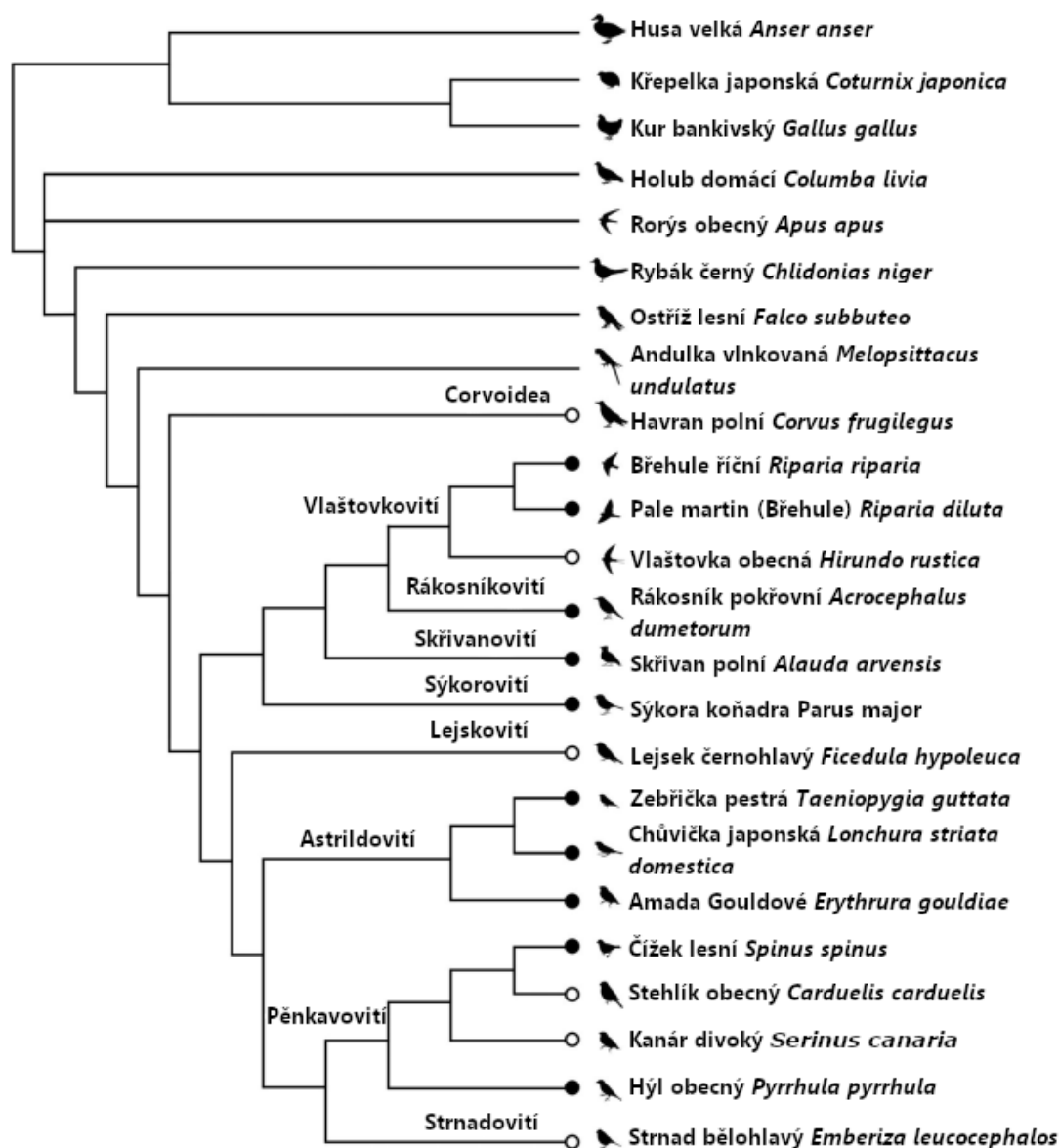
V oocytech se GRC zpravidla nachází jako z většiny euchromatický bivalent (Pigozzi a Solari 1998). Během meiózy prochází rekombinací na terminálních segmentech, jde ale o rekombinaci se svou vlastní kopií, tedy asexuální. Cílem této rekombinace tak zřejmě není získání evoluční výhody, ale spíše zajištění normálního chování GRC během meiotického dělení a tím pádem snazšího přenosu do další generace (Pigozzi a Solari 2005). Kvůli zajištění vzniku pouze oocytů obsahujících GRC zřejmě během oogeneze dochází k preferenční segregaci během anafáze I do jádra formujícího oocyt, viz *Obrázek č. 6* (Pigozzi a Solari 1998).



Obrázek 6: Schéma **A)** eliminace GRC ve spermatogenezi v prvním meiotickém dělení a **B)** preferenční přenos GRC do oocytu v oogenezi. (převzato a upraveno dle Pigozzi a Solari 1998)

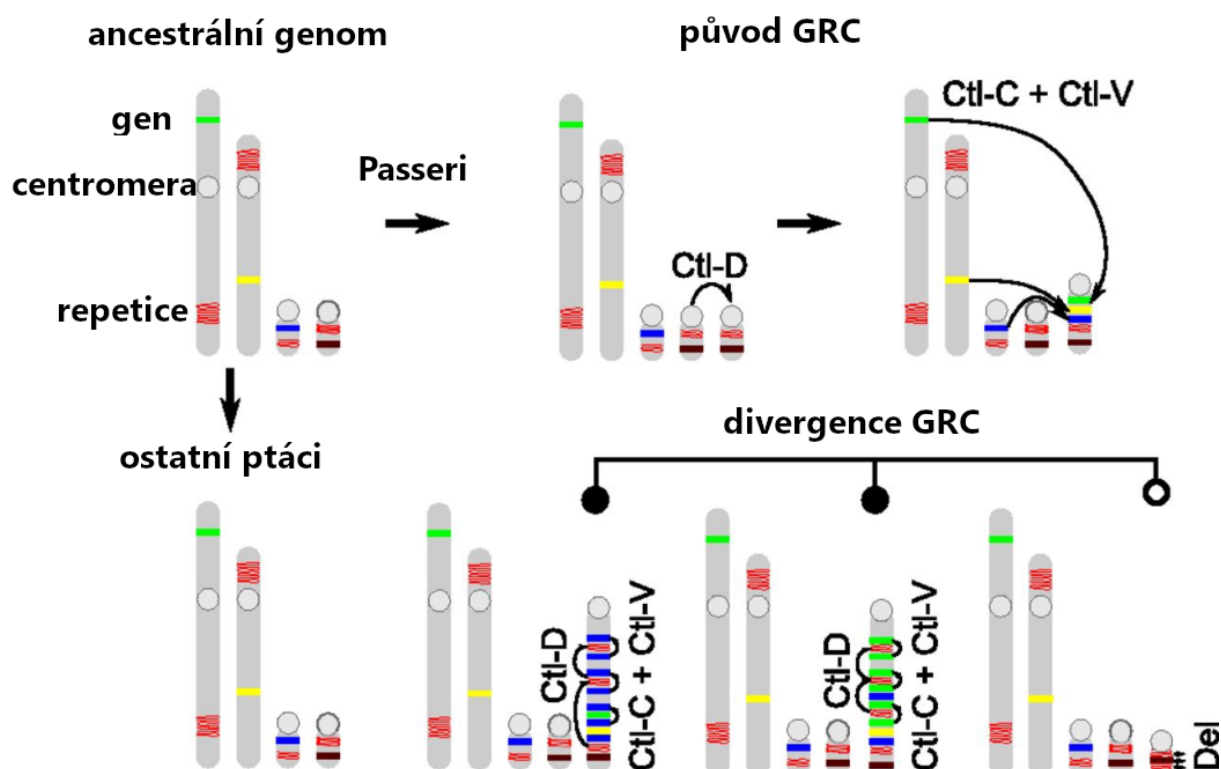
3.3.2 Germline-restricted chromosome (GRC)

Jde o nadbytečný chromozom vyskytující se v zárodečných buňkách pěvců. Vyskytoval u všech dosud zkoumaných zástupců pěvců, a naopak u zástupců ostatních řádů se nevyskytoval. U deseti zkoumaných druhů se nachází v podobě velkého akrocentrického chromozomu (makro-GRC), u šesti druhů jde o mikro-GRC, viz *Obrázek 7* (Torgasheva et al. 2019).



Obrázek 7: Kladogram druhů ptactva dosud testovaných na přítomnost GRC. Zahrnuty jsou hlavní čeledě zpěvných ptáků a několik čeledí nepatřících mezi pěvce. GRC se vyskytuje u všech testovaných čeledí pěvců. Černé kroužky označují druh s makro-GRC, bílé kroužky druh s mikro-GRC. (převzato a upraveno dle Torgasheva et al. 2019)

Původem je tedy GRC podobný B chromozomům. B chromozomy jsou většinou parazitické sobecké genetické elementy, které nejsou pevnou součástí genomu, ani v něm nehrají nijak vitální role. Běžně se liší v počtu mezi jedinci jednoho druhu i mezi buňkami jednoho jedince (Camacho et al. 2000). GRC byl tedy nejspíš kdysi vytvořen duplikací mikrochromozomu u společného předka pěvců. Během svého dalšího vývoje pak zřejmě pomocí kupříkladu translokací získal funkce důležité ve vývoji a specifikaci zárodečné linie buněk. Tím pádem jeho zachování v genomu přináší organismu jasné výhody a nadále se nejedná o parazitický vztah, viz *Obrázek 8* (Torgasheva et al. 2019).



Obrázek 8: Schéma možného původu a následné evoluce GRC. Ctl-D značí vytvoření GRC duplikací ancestrálního mikrochromozomu. Ctl-C + Ctl-V značí osídlení GRC repetitivními elementy. Divergence mezi GRC různých druhů nastává díky amplifikaci či delecí (Del) různých sekvencí (převzato a upraveno dle Torgasheva et al. 2019)

3.3.3 Obsah eliminované DNA

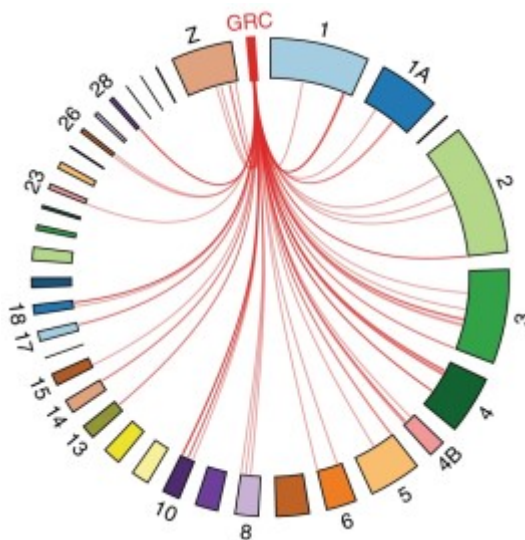
Pěvci eliminují celý chromozom, dochází tedy ke ztrátě repetitivních i kódujících sekvencí DNA. Příbuzné druhy pěvců mají alespoň částečně podobný obsah GRC – proby vytvořené dle makro-GRC hybridizovaly s mikro-GRC jiného druhu. Obsah DNA je ale nejlépe prozkoumaný u zebříčky pestré, jejíž GRC je akrocentrický makrochromozom (Torgasheva et al., 2019).

Dle naklonování části GRC dle Itoh et al. (2009) ukazovaly 3 proby signály možných repetitivních sekvencí na větší části GRC. Přesto oproti somatickému genomu GRC neobsahuje vyšší procento transpozonálních elementů. Repetice přítomné na GRC se skládají hlavně z long terminal repeats (LTR) a long interspersed nuclear elements (LINE). Itoh et al. našel část GRC homologní k chromozomům 3 zebříčky. Tento náález odpovídá teorii o duplikačním a translokačním původu GRC (Itoh et al. 2009; Torgasheva et al. 2019).

První kódující gen přítomný na GRC u zebříčky pestré byl objeven v roce 2018 Biederman et al. Jde o α -SNAP gen, a kromě jeho GRC varianty existuje u zebříčky zároveň jeho paralog v somatické tkáni (somatolog). Mezi oběma verzemi genu se liší exprese dle

pohlaví. K expresi GRC verze dochází hlavně ve vaječnících, ve varlatech je nízká. Somatolog je exprimován jak v somatických, tak v zárodečných buňkách, ale nejvíce ve varlatech. Jelikož obě dvě verze jsou funkční a aktivní, GRC verze si zřejmě vyvinula novou funkci, aby zabránila redundanci. K efektu zdvojení dávky genu ale může docházet pouze v zárodečných buňkách (Biederman et al. 2018).

V následující studii Kinsella et al. objevil celkem 115 genů, které jsou s velkou pravděpodobností přítomny na GRC zebřičky. Všechny tyto geny mají paralogy na dohromady osmnácti autozomech a Z chromozomu, viz *Obrázek 9*. Minimálně 6 z těchto genů se transkribuje ve varlatech a 32 ve vaječnících. Obecně je jich mnoho transkribovaných i translatovaných v gonádách, je proto možné, že GRC u samců není zcela silenced. GRC obsahuje geny související s vývojem a determinací zárodečných buněk. Konkrétní obsažené geny jsou kromě α -SNAP například *robo1*, *gbei1* či *prdm1*, což je gen související právě s regulací diferenciací zárodečných buněk myši. Získáním genů s podobnými funkcemi se GRC z parazitického elementu stal zřejmě nepostradatelnou součástí genomu zárodečných buněk (Vincent et al. 2005; Kinsella et al. 2019; Torgasheva et al. 2019).



Obrázek 9: Graf ukazující původ genů přítomných na GRC zebřičky pestré, pocházejí z celkem 18 autozomů a Z chromozomu (převzato dle Kinsella et al. 2019)

3.3.4 Mechanismus PDE u pěvců

U pěvců je nejvíce prozkoumána eliminace během samčí meiózy u zebříčky pestré. Součástí ne zcela známého mechanismu jsou různé epigenetické modifikace jako metylace či fosforylace a po vyloučení GRC z jádra buňky opět tvorba micronuclei (Pigozzi a Solari 2005; Del Priore a Pigozzi 2014).

V rané meiotické profázi podstupuje GRC důležité epigenetické modifikace, jako jsou H3K9me2, H3K9me3, H4K20me2 a H4K20me3, které označují heterochromatinizaci chromatinu. Zároveň po celou meiotickou profázi GRC chybí markery aktivní transkripce, což společně ukazuje na jeho transkripční silencing během meiózy (Schotta et al. 2004; Goday a Pigozzi 2010; Schoenmakers et al. 2010). Během metafáze I mizí H3K9me2 marker, jehož změny by mohly být součástí mechanismu značícího GRC k eliminaci, a zároveň je na GRC nedostatek H3S10P spojeného s kondenzací chromatinu. H3S10P lze naopak nalézt ve spermatogoniální metafázi, kdy se GRC správně segreguje do dceřinných spermatocytů. Je tedy možné, že nedostatečná fosforylace histonu H3 souvisí s vyloučením GRC z jádra během prvního meiotického dělení (Cerutti a Casas-Mallano 2009; Del Priore a Pigozzi 2014).

Během přechodu první meiotické metafáze do anafáze je GRC zcela separován od dvou rozcházejících se haploidních genomů. Ve většině spermatocytů už nebude součástí jádra, místo jádra se kolem vyloučeného GRC vytvoří nový micronucleus (Pigozzi a Solari 2005; Schoenmakers et al. 2010). Svou roli při separaci GRC od ostatních chromozomů během profáze může hrát chybějící INCENP (vnitřní centromerický protein) sekvence, která zajišťuje segregaci chromozomů a interakce kinetochor s mikrotubuly (Mackay et al. 1998). Jejich špatným spojením může docházet k oddělení GRC od genomu a jeho eliminaci. Během oddělení GRC od ostatních chromozomů a jeho vyloučení z jádra dochází dle značení TUNEL ke dvouvláknovým zlomům a k jeho postupné degradaci (Schoenmakers et al. 2010; Kyrylkova et al. 2012).

4 ZÁVĚR

Programovaná DNA eliminace je řízený proces ztráty genetické informace, známý již od roku 1887, vyskytující se u jednobuněčných organismů, rostlin i živočichů. Probíhat může v somatických i zárodečných buňkách jedince, dle funkce, kterou tento jev v organismu zastává. Některé organismy ztrácejí i naprostou většinu své genetické informace z kupříkladu somatické linie buněk, eliminovaná DNA však obvykle zůstává zachována v zárodečné linii a je předána potomstvu. Celkově jde o proces využívající ke svým cílům poněkud drastické metody trvalého vymazání informace.

U různých živočichů plní eliminace DNA různé důležité funkce. Při diferenciaci somatické a zárodečné linie např. zabraňuje expresi potenciálně nebezpečných genů jejich vymazáním ze somatických buněk, a tím pádem jejich omezením na zárodečné buňky, se kterými jejich exprese častěji souvisí. U funkce určení pohlaví živočicha je cílem odlišení pohlaví například obnovením určitého vyžadovaného poměru pohlavních chromosomů a autozomů. Při tvorbě haploidních gamet při hybridogenezi je cílem eliminací tvořit gamety pouze s jedním rodičovským genomem a rozmnožováním udržet hybridní populaci v F1 generaci.

Ačkoliv se u živočichů vybraných pro tuto práci – mihulí, skokana zeleného a pěvců – funkce shodují jen částečně, podobnost lze nalézt v mechanismech eliminace DNA. DNA určenou k eliminaci v průběhu meiotického či mitotického cyklu označují epigenetické modifikace značící heterochromatin či euchromatin. Jejich přítomnost může znamenat označení chromatinu určeného k eliminaci. Po vyloučení chromatinu z jádra vybraní živočichové obalují eliminovanou DNA v membráně a vytvářejí micronuclei, ve kterých dochází k finální degradaci. Jediným rozdílem může být vznik micronuclei, u všech organismů nalezneme obalení materiálu membránou de novo při buněčném dělení, ale skokan zelený navíc primárně vytváří micronuclei pučením z hlavního jádra.

Během programované DNA eliminace se ztrácí celé chromozomy i jejich části, a dochází tak ke ztrátě repetitivních i kódujících sekvencí. Dle studie na mihulích jsou eliminované repetitivní sekvence specifické pouze pro eliminovanou DNA a mohou tak sloužit k označení a rozpoznání chromozomů určených k eliminaci. Některé eliminované chromozomy jako je GRC mají svůj původ v parazitických sobeckých elementech, ale po nashromáždění užitečných genů se staly nakonec spíše „symbionty“. Kódující geny obsažené v eliminované DNA u mihule či u zebříčky svou funkcí velmi často souvisí s vývojem nebo diferenciací zárodečných buněk. Jejich chybná exprese v somatických

buňkách má často závažné, například rakovinotvorné, následky. V podobných případech pak může být omezení tak nebezpečných genů na místo, kde mají svou funkci uplatnit, nejlepší řešení.

Ohledně programované DNA eliminace zbývá zodpovědět mnoho otázek. Důležitou otázkou zůstávají přesné mechanismy označení chromatinu určeného k eliminaci a přesné funkce jednotlivých epigenetických modifikací v této souvislosti. Stále ještě zbývá přesně zmapovat veškeré eliminované geny a určit přesnou funkci repetitivních sekvencí specifických pro zárodečné buňky/eliminované chromozomy. Jev programované DNA eliminace se také může vyskytovat u dalších druhů organismů, a nám nezbývá, než je objevit.

5 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ALBERTSON, Donna G. a J. Nichol THOMSON, 1982. The kinetochores of *Caenorhabditis elegans*. *Chromosoma* [online]. B.m.: Springer-Verlag, **86**(3), 409–428 [vid. 2020-07-27]. ISSN 00095915. Dostupné z: doi:10.1007/BF00292267
- BIEDERMAN, Michelle K., Megan M. NELSON, Kathryn C. ASALONE, Alyssa L. PEDERSEN, Colin J. SALDANHA a John R. BRACHT, 2018. Discovery of the First Germline-Restricted Gene by Subtractive Transcriptomic Analysis in the Zebra Finch, *Taeniopygia guttata*. *Current Biology* [online]. B.m.: Cell Press, **28**(10), 1620–1627.e5 [vid. 2020-07-28]. ISSN 09609822. Dostupné z: doi:10.1016/j.cub.2018.03.067
- BRACHT, John R., Wenwen FANG, Aaron David GOLDMAN, Egor DOLZHENKO, Elizabeth M. STEIN a Laura F. LANDWEBER, 2013. *Genomes on the edge: Programmed genome instability in ciliates* [online]. 31. leden 2013. B.m.: NIH Public Access. [vid. 2020-07-26]. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2013.01.005
- BRYANT, Stephanie A., Joseph R. HERDY, Chris T. AMEMIYA a Jeremiah J. SMITH, 2016. Characterization of Somatic-ly-Eliminated Genes during Development of the Sea Lamprey (*Petromyzon marinus*). *Molecular Biology and Evolution* [online]. **33**(9), 2337–2344. ISSN 15371719. Dostupné z: doi:10.1093/molbev/msw104
- CAMACHO, Juan Pedro M, Timothy F SHARBEL a Leo W BEUKEBOOM, 2000. B-chromosome evolution. 163–178.
- CERUTTI, Heriberto a J. Armando CASAS-MALLANO, 2009. Histone H3 phosphorylation: Universal code or lineage specific dialects? *Epigenetics* [online]. B.m.: Taylor and Francis Inc., **4**(2), 71–75 [vid. 2020-08-13]. ISSN 15592308. Dostupné z: doi:10.4161/epi.4.2.7781
- CHMIELEWSKA, Magdalena, Dmitry DEDUKH, Katarzyna HACZKIEWICZ, Beata ROZENBLUT-KOŚCISTY, Mikołaj KAŻMIERCZAK, Krzysztof KOLENDA, Ewa SERWA, Agnieszka PIETRAS-LEBIODA, Alla KRASIKOVA a Maria OGIELSKA, 2018. The programmed DNA elimination and formation of micronuclei in germ line cells of the natural hybridogenetic water frog *Pelophylax esculentus*. *Scientific Reports* [online]. B.m.: Nature Publishing Group, **8**(1). ISSN 20452322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-018-26168-z
- CHRISTIANSEN, Ditte G., 2009. Gamete types, sex determination and stable equilibria of all-hybrid populations of diploid and triploid edible frogs (*Pelophylax esculentus*). *BMC Evolutionary Biology* [online]. **9**(1), 1–16. ISSN 14712148. Dostupné z: doi:10.1186/1471-2148-9-135
- DE SAINT PHALLE, Brigitte a William SULLIVAN, 1996. Incomplete sister chromatid separation is the mechanism of programmed chromosome elimination during early *Sciara coprophila* embryogenesis. *Development*. B.m.: The Company of Biologists Ltd, **122**(12), 3775–3784. ISSN 09501991.
- DEDUKH, D., S. RIUMIN, M. CHMIELEWSKA, B. ROZENBLUT-KOŚCISTY, K. KOLENDA, M. KAZMIERCZAK, A. DUDZIK, M. OGIELSKA a A. KRASIKOVA, 2020. Micronuclei in germ cells of hybrid frogs from *Pelophylax esculentus* complex contain gradually eliminated chromosomes. *Scientific Reports* [online]. **10**(1), 1–13. ISSN 20452322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-020-64977-3
- DEDUKH, Dmitry, Spartak LITVINCHUK, Juriy ROSANOV, Glib MAZEPA, Alsu SAIFITDINOVA, Dmitry SHABANOV a Alla KRASIKOVA, 2015. Optional Endoreplication and Selective Elimination of Parental Genomes during Oogenesis in Diploid and Triploid Hybrid European Water Frogs. *PLOS ONE* [online]. B.m.: Public Library of Science, **10**(4), e0123304 [vid. 2020-08-11]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0123304
- DEDUKH, Dmitry, Spartak LITVINCHUK, Juriy ROSANOV, Dmitry SHABANOV a Alla KRASIKOVA, 2017. Mutual maintenance of di- and triploid *Pelophylax esculentus* hybrids in R-E systems: Results from artificial crossings experiments. *BMC Evolutionary Biology* [online]. B.m.: BMC Evolutionary Biology, **17**(1), 1–15. ISSN 14712148. Dostupné z: doi:10.1186/s12862-017-1063-3
- DEDUKH, Dmitry, Glib MAZEPA, Dmitry SHABANOV, Juriy ROSANOV, Spartak LITVINCHUK, Leo BORKIN, Alsu SAIFITDINOVA a Alla KRASIKOVA, 2013. Cytological maps of lampbrush chromosomes of European water frogs (*Pelophylax esculentus* complex) from the Eastern Ukraine. *BMC Genetics* [online]. **14**, 1–20. ISSN 14712156. Dostupné z: doi:10.1186/1471-2156-14-26
- DEL PRIORE, Lucía a María Inés PIGOZZI, 2014. Histone modifications related to chromosome silencing

and elimination during male meiosis in Bengalese finch. *Chromosoma* [online]. B.m.: Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, **123**(3), 293–302. ISSN 14320886. Dostupné z: doi:10.1007/s00412-014-0451-3

DOLEŽÁLKOVÁ, Marie, Alexandr SEMBER, František MAREC, Petr RÁB, Jörg PLÖTNER a Lukáš CHOLEVA, 2016. Is premeiotic genome elimination an exclusive mechanism for hemiclinal reproduction in hybrid males of the genus *Pelophylax*? *BMC Genetics* [online]. **17**(1), 1–9. ISSN 14712156. Dostupné z: doi:10.1186/s12863-016-0408-z

GERNAND, Dorota, Twan RUTTEN, Alok VARSHNEY, Myroslava RUBTSOVA, Slaven PRODANOVIC, Cornelia BRÜSS, Jochen KUMLEHN, Fritz MATZK a Andreas HOUBEN, 2005. Uniparental chromosome elimination at mitosis and interphase in wheat and pearl millet crosses involves micronucleus formation, progressive heterochromatinization, and DNA fragmentation. *Plant Cell* [online]. B.m.: American Society of Plant Biologists, **17**(9), 2431–2438 [vid. 2020-08-10]. ISSN 10404651. Dostupné z: doi:10.1105/tpc.105.034249

GODAY, Clara a María Inés PIGOZZI, 2010. Heterochromatin and histone modifications in the germline-restricted chromosome of the zebra finch undergoing elimination during spermatogenesis. *Chromosoma* [online]. B.m.: Springer, **119**(3), 325–336 [vid. 2020-07-28]. ISSN 00095915. Dostupné z: doi:10.1007/s00412-010-0260-2

GOTO, Yuji, Souichirou KUBOTA a Sei-ichi KOHNO, 1998. Highly repetitive DNA sequences that are restricted to the germ line in the hagfish *Eptatretus cirrhatu*: a mosaic of eliminated elements. *Chromosoma* [online]. B.m.: Springer Science and Business Media LLC, **107**(1), 17–32 [vid. 2020-07-27]. ISSN 0009-5915. Dostupné z: doi:10.1007/s004120050278

GRISHANIN, Andrey, 2014. Chromatin diminution in copepoda (Crustacea): Pattern, biological role and evolutionary aspects. *Comparative Cytogenetics* [online]. B.m.: Pensoft Publishers, **8**(1), 1–10 [vid. 2020-07-26]. ISSN 1993078X. Dostupné z: doi:10.3897/CompCytogen.v8i1.5913

HACZKIEWICZ, Katarzyna, Beata ROZENBLUT-KOŚCISTY a Maria OGIELSKA, 2017. Prespermatogenesis and early spermatogenesis in frogs. *Zoology* [online]. B.m.: Elsevier GmbH, **122**, 63–79. ISSN 09442006. Dostupné z: doi:10.1016/j.zool.2017.01.003

HAYMAN, D L a P G MARTIN, 1965. Sex chromosome mosaicism in the marsupial genera *Isodon* and *Perameles*. *Genetics* [online]. B.m.: Genetics Society of America, **52**(6), 1201–6 [vid. 2020-07-26]. ISSN 0016-6731. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5882195>

ITOH, Yuichiro a Arthur P. ARNOLD, 2005. Chromosomal polymorphism and comparative painting analysis in the zebra finch. In: *Chromosome Research* [online]. B.m.: Springer, s. 47–56 [vid. 2020-08-13]. ISSN 09673849. Dostupné z: doi:10.1007/s10577-005-6602-x

ITOH, Yuichiro, Kathy KAMPF, María Inés PIGOZZI a Arthur P. ARNOLD, 2009. Molecular cloning and characterization of the germline-restricted chromosome sequence in the zebra finch. *Chromosoma* [online]. **118**(4), 527–536. ISSN 00095915. Dostupné z: doi:10.1007/s00412-009-0216-6

JANIC, Ana, Leire MENDIZABAL, Salud LLAMAZARES, David ROSSELL a Cayetano GONZALEZ, 2010. Ectopic expression of germline genes drives malignant brain tumor growth in *Drosophila*. *Science* [online]. B.m.: Science, **330**(6012), 1824–1827 [vid. 2020-07-27]. ISSN 00368075. Dostupné z: doi:10.1126/science.1195481

JUNG, David, Cosmas GIALLOURAKIS, Raul MOSTOSLAVSKY a Frederick W. ALT, 2006. MECHANISM AND CONTROL OF V(D)J RECOMBINATION AT THE IMMUNOGLOBULIN HEAVY CHAIN LOCUS. *Annual Review of Immunology* [online]. B.m.: Annual Reviews, **24**(1), 541–570 [vid. 2020-07-26]. ISSN 0732-0582. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.immunol.23.021704.115830

KINGSLEY, Evan P., Chad M. ELIASON, Tobias RIEDE, Zhiheng LI, Tom W. HISCOCK, Michael FARNSWORTH, Scott L. THOMSON, Franz GOLLER, Clifford J. TABIN a Julia A. CLARKE, 2018. *Identity and novelty in the avian syrinx* [online]. 9. říjen 2018. B.m.: National Academy of Sciences. [vid. 2020-08-13]. ISSN 10916490. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1804586115

KINSELLA, Cormac M., Francisco J. RUIZ-RUANO, Anne-Marie DION-CÔTÉ, Alexander J. CHARLES, Toni I. GOSSMANN, Josefa CABRERO, Dennis KAPPEI, Nicola HEMMINGS, Mirre J. P. SIMONS, Juan Pedro M. CAMACHO, Wolfgang FORSTMEIER a Alexander SUH, 2019. Programmed DNA elimination of germline development genes in songbirds. *Nature Communications* [online]. B.m.: Nature Research, **10**(1), 5468 [vid. 2020-07-28]. ISSN 2041-1723. Dostupné z: doi:10.1038/s41467-019-13427-4

- KLOC, Malgorzata a Bozena ZAGRODZINSKA, 2001. Chromatin elimination - An oddity or a common mechanism in differentiation and development? *Differentiation* [online]. B.m.: International Society of Differentiation, **68**(2–3), 84–91. ISSN 03014681. Dostupné z: doi:10.1046/j.1432-0436.2001.680202.x
- KYRYLKOVA, Kateryna, Sergiy KYRYACHENKO, Mark LEID a Chrissa KIOUSSI, 2012. Detection of apoptosis by TUNEL assay. *Methods in Molecular Biology* [online]. B.m.: Humana Press Inc., **887**, 41–47 [vid. 2020-08-13]. ISSN 10643745. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-61779-860-3_5
- MACKAY, Alastair M., Alexandra M. AINSZTEIN, D. Mark ECKLEY a William C. EARNSHAW, 1998. A dominant mutant of inner centromere protein (INCENP), a chromosomal protein, disrupts prometaphase congression and cytokinesis. *Journal of Cell Biology* [online]. B.m.: The Rockefeller University Press, **140**(5), 991–1002 [vid. 2020-08-13]. ISSN 00219525. Dostupné z: doi:10.1083/jcb.140.5.991
- MADERSPACHER, Florian, 2008. *Theodor Boveri and the natural experiment* [online]. 8. duben 2008. B.m.: Cell Press. ISSN 09609822. Dostupné z: doi:10.1016/j.cub.2008.02.061
- MITSUI, Kazutaka, Daisuke NAKAJIMA, Osamu OHARA a Manabu NAKAYAMA, 2002. Mammalian fat3: A large protein that contains multiple cadherin and EGF-like motifs. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [online]. B.m.: Academic Press, **290**(4), 1260–1266. ISSN 0006291X. Dostupné z: doi:10.1006/bbrc.2002.6338
- NEAVES, William B. a Peter BAUMANN, 2011. *Unisexual reproduction among vertebrates* [online]. 1. března 2011. B.m.: Elsevier Current Trends. ISSN 01689525. Dostupné z: doi:10.1016/j.tig.2010.12.002
- NEMETSCHKE, Linda, Alexander G. EBERHARDT, Hubertus HERTZBERG a Adrian STREIT, 2010. Genetics, chromatin diminution, and sex chromosome evolution in the parasitic nematode genus *strongyloides*. *Current Biology* [online]. B.m.: Elsevier, **20**(19), 1687–1696 [vid. 2020-08-10]. ISSN 09609822. Dostupné z: doi:10.1016/j.cub.2010.08.014
- OGIELSKA, Maria a Erika WAGNER, 1993. Oogenesis and ovary development in the natural hybridogenetic water frog, *Rana esculenta* L. I: Tadpole stages until metamorphosis.
- PAYNE, Robert B., 2020. Zebra Finch (*Taeniopygia guttata*). In: *Birds of the World* [online]. B.m.: Cornell Lab of Ornithology. Dostupné z: doi:10.2173/bow.zebf2.01
- PIGOZZI, M. I. a A. J. SOLARI, 1998. Germ cell restriction and regular transmission of an accessory chromosome that mimics a sex body in the zebra finch, *Taeniopygia guttata*. *Chromosome Research* [online]. B.m.: Springer, **6**(2), 105–113 [vid. 2020-07-28]. ISSN 09673849. Dostupné z: doi:10.1023/A:1009234912307
- PIGOZZI, M. I. a A. J. SOLARI, 2005. The germ-line-restricted chromosome in the zebra finch: Recombination in females and elimination in males. *Chromosoma* [online]. B.m.: Springer, **114**(6), 403–409 [vid. 2020-07-28]. ISSN 00095915. Dostupné z: doi:10.1007/s00412-005-0025-5
- SALEEM, Mohammad, Muhammad Imran QADIR, Nadia PERVEEN, Bashir AHMAD, Uzma SALEEM, Tehseen IRSHAD a Bashir AHMAD, 2013. Inhibitors of Apoptotic Proteins: New Targets for Anticancer Therapy. *Chemical Biology & Drug Design* [online]. B.m.: John Wiley & Sons, Ltd, **82**(3), 243–251 [vid. 2020-07-27]. ISSN 17470277. Dostupné z: doi:10.1111/cbdd.12176
- SÁNCHEZ, L a R NÖTHIGER, 1983. Sex determination and dosage compensation in *Drosophila melanogaster*: production of male clones in XX females. *The EMBO journal* [online]. B.m.: European Molecular Biology Organization, **2**(4), 485–91 [vid. 2020-08-10]. ISSN 0261-4189. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16453442>
- SÁNCHEZ, Lucas a André L.P. PERONDINI, 1999. Sex determination in sciarid flies: A model for the control of differential X-chromosome elimination. *Journal of Theoretical Biology* [online]. B.m.: Academic Press, **197**(2), 247–259. ISSN 00225193. Dostupné z: doi:10.1006/jtbi.1998.0868
- SCHOENMAKERS, S., E. WASSENAAR, J. S. LAVEN, J. A. GROOTEGOED a W. M. BAARENDSE, 2010. Meiotic silencing and fragmentation of the male germline restricted chromosome in zebra finch. *Chromosoma*. **119**, 311–324.
- SCHOTTA, Gunnar, Monika LACHNER, Kavitha SARMA, Anja EBERT, Roopsha SENGUPTA, Gunter REUTER, Danny REINBERG a Thomas JENUWEIN, 2004. A silencing pathway to induce H3-K9 and H4-K20 trimethylation at constitutive heterochromatin. *Genes and Development* [online]. **18**(11), 1251–1262. ISSN 08909369. Dostupné z: doi:10.1101/gad.300704
- SCHULTZ, R. Jack, 1969. *Hybridization, Unisexuality, and Polyploidy in the Teleost Poeciliopsis*

- (*Poeciliidae*) and Other Vertebrates [online]. 1969. B.m.: The University of Chicago PressThe American Society of Naturalists. [vid. 2020-08-13]. Dostupné z: doi:10.2307/2459036
- SMITH, Jeramiah J., 2018. *Programmed DNA Elimination: Keeping Germline Genes in Their Place* [online]. 21. květen 2018. B.m.: Cell Press. ISSN 09609822. Dostupné z: doi:10.1016/j.cub.2018.03.057
- SMITH, Jeramiah J., Francesca ANTONACCI, Evan E. EICHLER a Chris T. AMEMIY, 2009. Programmed loss of millions of base pairs from a vertebrate genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. **106**(27), 11212–11217. ISSN 00278424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0902358106
- SMITH, Jeramiah J., Carl BAKER, Evan E. EICHLER a Chris T. AMEMIYA, 2012. Genetic consequences of programmed genome rearrangement. *Current Biology* [online]. **22**(16), 1524–1529. ISSN 09609822. Dostupné z: doi:10.1016/j.cub.2012.06.028
- SMITH, Jeramiah J., Nataliya TIMOSHEVSKAYA, Chengxi YE, Carson HOLT, Melissa C. KEINATH, Hugo J. PARKER, Malcolm E. COOK, Jon E. HESS, Shawn R. NARUM, Francesco LAMANNA, Henrik KAESMANN, Vladimir A. TIMOSHEVSKIY, Courtney K.M. WATERBURY, Cody SARACENO, Leanne M. WIEDEMANN, Sofia M.C. ROBB, Carl BAKER, Evan E. EICHLER, Dorit HOCKMAN, Tatjana SAUKA-SPENGLER, Mark YANDELL, Robb KRUMLAUF, Greg ELGAR a Chris T. AMEMIYA, 2018. The sea lamprey germline genome provides insights into programmed genome rearrangement and vertebrate evolution. *Nature Genetics* [online]. B.m.: Nature Publishing Group, **50**(2), 270–277. ISSN 15461718. Dostupné z: doi:10.1038/s41588-017-0036-1
- STREIT, Adrian a Richard E DAVIS, 2016. Chromatin Diminution. *eLS* [online]. (January), 1–8. Dostupné z: doi:10.1002/9780470015902.a0001181.pub2
- STREIT, Adrian, Jianbin WANG, Yuanyuan KANG a Richard E. DAVIS, 2016. *Gene silencing and sex determination by programmed DNA elimination in parasitic nematodes* [online]. 1. srpen 2016. B.m.: Elsevier Ltd. [vid. 2020-08-11]. ISSN 18790364. Dostupné z: doi:10.1016/j.mib.2016.05.012
- SUN, Cheng, Grace WYNGAARD, D. B. WALTON, Holly A. WICHMAN a Rachel L. MUELLER, 2014. Billions of basepairs of recently expanded, repetitive sequences are eliminated from the somatic genome during copepod development. *BMC Genomics* [online]. B.m.: BioMed Central Ltd., **15**(1), 186 [vid. 2020-08-10]. ISSN 14712164. Dostupné z: doi:10.1186/1471-2164-15-186
- TAVERNA, Sean D., Robert S. COYNE a C. D. ALLIS, 2002. Methylation of histone H3 at lysine 9 targets programmed DNA elimination in Tetrahymena. *Cell* [online]. **110**(6), 701–711. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/S0092-8674(02)00941-8
- TIMOSHEVSKIY, Vladimir A., Joseph R. HERDY, Melissa C. KEINATH a Jeramiah J. SMITH, 2016. Cellular and Molecular Features of Developmentally Programmed Genome Rearrangement in a Vertebrate (Sea Lamprey: *Petromyzon marinus*). *PLoS Genetics* [online]. **12**(6), 1–20. ISSN 15537404. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pgen.1006103
- TIMOSHEVSKIY, Vladimir A., Ralph T. LAMPMAN, Jon E. HESS, Laurie L. PORTER a Jeramiah J. SMITH, 2017. Deep ancestry of programmed genome rearrangement in lampreys. *Developmental Biology* [online]. B.m.: Academic Press Inc., **429**(1), 31–34. ISSN 1095564X. Dostupné z: doi:10.1016/j.ydbio.2017.06.032
- TIMOSHEVSKIY, Vladimir A., Nataliya Y. TIMOSHEVSKAYA a Jeramiah J. SMITH, 2019. Germline-Specific Repetitive Elements in Programmatically Eliminated Chromosomes of the Sea Lamprey (*Petromyzon marinus*). *Genes* [online]. **10**(10). ISSN 20734425. Dostupné z: doi:10.3390/genes10100832
- TORGASHEVA, Anna A., Lyubov P. MALINOVSKAYA, Kira S. ZADESENETS, Tatyana V. KARAMYSHEVA, Elena A. KIZILOVA, Ekaterina A. AKBERDINA, Inna E. PRISTYAZHNYUK, Elena P. SHNAIDER, Valeria A. VOLODKINA, Alsu F. SAIFITDINOVA, Svetlana A. GALKINA, Denis M. LARKIN, Nikolai B. RUBTSOV a Pavel M. BORODIN, 2019. Germline-restricted chromosome (GRC) is widespread among songbirds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. B.m.: National Academy of Sciences, **116**(24), 11845–11850. ISSN 10916490. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1817373116
- TUNNER, H. G. a S. HEPPICH, 1981. Premeiotic genome exclusion during oogenesis in the common edible frog, *Rana esculenta*. *Naturwissenschaften* [online]. B.m.: Springer-Verlag, **68**(4), 207–208 [vid. 2020-07-28]. ISSN 00281042. Dostupné z: doi:10.1007/BF01047207
- VINCENT, Stéphane D., N. Ray DUNN, Roger SCIAMMAS, Miriam SHAPIRO-SHALEF, Mark M.

- DAVIS, Kathryn CALAME, Elizabeth K. BIKOFF a Elizabeth J. ROBERTSON, 2005. The zinc finger transcriptional repressor Blimp1/Prdm1 is dispensable for early axis formation but is required for specification of primordial germ cells in the mouse. *Development* [online]. **132**(6), 1315–1325. ISSN 09501991. Dostupné z: doi:10.1242/dev.01711
- VINOGRADOV, A. E., L. J. BORKIN, R. GUNTHER a J. M. ROSANOV, 1990. Genome elimination in diploid and triploid *Rana esculenta* males: cytological evidence from DNA flow cytometry. *Genome* [online]. B.m.: NRC Research Press Ottawa, Canada , **33**(5), 619–627. ISSN 08312796. Dostupné z: doi:10.1139/g90-092
- WANG, Jianbin a Richard E. DAVIS, 2014. *Programmed DNA elimination in multicellular organisms* [online]. 2014. B.m.: Elsevier Ltd. ISSN 18790380. Dostupné z: doi:10.1016/j.gde.2014.03.012
- WANG, Jianbin, Makedonka MITREVA, Matthew BERRIMAN, Alicia THORNE, Vincent MAGRINI, Georgios KOUTSOVOULOS, Sujai KUMAR, Mark L. BLAXTER a Richard E. DAVIS, 2012. Silencing of Germline-Expressed Genes by DNA Elimination in Somatic Cells. *Developmental Cell* [online]. **23**(5), 1072–1080. ISSN 15345807. Dostupné z: doi:10.1016/j.devcel.2012.09.020
- WILES, Elizabeth T. a Eric U. SELKER, 2017. *H3K27 methylation: a promiscuous repressive chromatin mark* [online]. 1. duben 2017. B.m.: Elsevier Ltd. ISSN 18790380. Dostupné z: doi:10.1016/j.gde.2016.11.001
- ZHANG, Jun, Min SUN, Li ZHOU, Zhi LI, Zhen LIU, Xi Yin LI, Xiao Li LIU, Wei LIU a Jian Fang GUI, 2015. Meiosis completion and various sperm responses lead to unisexual and sexual reproduction modes in one clone of polyploid *Carassius gibelio*. *Scientific Reports* [online]. B.m.: Nature Publishing Group, **5**(1), 1–14 [vid. 2020-08-10]. ISSN 20452322. Dostupné z: doi:10.1038/srep10898